

**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA**

**E.A.P. DE MEDICINA VETERINARIA**

**Criptosporidiasis en caninos criados en comunidades  
campesinas de tres distritos del departamento de Puno**

**TESIS**

**para optar el título de Médico Veterinario**

**AUTORA**

**Noemit Norma Celis Samanez**

**ASESORES**

**Amanda Chávez V.**

**Francisco Suárez A.**

**Lima – Perú**

**2010**

## TABLA DE CONTENIDO

	<b>Pág.</b>
TABLA DE CONTENIDO	ii
RESUMEN	iv
ABSTRACT	v
LISTA DE CUADROS	vi
LISTA DE FIGURAS	vii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
2.1. Generalidades del parásito	3
2.2. Morfología del parásito	5
2.3. Ciclo biológico	7
2.4. Epidemiología	9
2.4.1. Prevalencia de criptosporidiosis	9
2.4.2. Fuentes contagio y vías de transmisión	12
2.4.3. Factores epidemiológicos asociados al parásito	13
a) Resistencia de los ooquistes	13
b) Dosis infectante y características del aislado	14
2.4.4. Factores epidemiológicos asociados al hospedador	15
a) Especie	15
b) Edad	15
c) Estado inmunitario	16
d) Ingestión de calostro	16
2.4.5. Factores epidemiológicos asociados al medio ambiente	17
2.5. Signos clínicos	18
a) Humanos	18
b) Animales	18
2.6. Lesiones	19

2.7. Patogenia	20
2.8. Diagnóstico	21
2.9. Tratamiento	23
2.10. Prevención y control	25
III. MATERIALES Y MÉTODOS	27
3.1. Lugar de estudio	27
3.2. Animales del estudio	28
3.3. Tamaño muestral	28
3.4. Recolección y procesamiento de muestras	29
3.5. Análisis coprológico de las muestras	30
A. Reactivos	30
B. Procedimiento	30
C. Lectura de láminas	31
3.6. Análisis estadístico	32
IV. RESULTADOS	33
V. DISCUSIÓN	35
VI. CONCLUSIONES	39
VII. RECOMENDACIONES	40
VIII. BIBLIOGRAFÍA CITADA	41

## RESUMEN

El objetivo del estudio fue estimar la prevalencia de *Cryptosporidium* sp. en caninos de comunidades campesinas, ubicadas en los distritos de Ajoyani; provincia de Carabaya; Palca y Santa Lucía; provincia de Lampa-Puno. Se recolectaron 123 muestras fecales de perros aparentemente sanos, de ambos sexos y diferentes edades, las que estuvieron comprendidas entre 1 mes y 16 años durante los meses de febrero y marzo del 2009. Las heces, fueron transportadas inmediatamente al Laboratorio del INIA-Quimsachata (Puno) donde se realizaron los frotices fecales, siendo fijados en metanol. Posteriormente se transportaron al Laboratorio de Parasitología de la FMV-UNMSM en Lima, para su diagnóstico; el cual se realizó usando la técnica de Ziehl-Neelsen modificada. La prevalencia general de *Cryptosporidium* sp. fue de  $26.8 \pm 7.8\%$ , se hallaron prevalencias de 19.0, 28.6 y 28.4% en los distritos de Ajoyani, Palca y Santa Lucía, respectivamente; los machos y hembras presentaron prevalencias de 28.3 y 17.6%, respectivamente y según los grupos etarios de 0-6, >6-12, >12-72 y >72 meses fueron de 46.2, 31.3, 19.7, 29.4%, respectivamente. Se aplicó la prueba de Chi cuadrado, con un nivel de significancia de 0.05. El análisis estadístico no mostró asociación significativa ( $p > 0.05$ ) entre este protozoo de caninos domésticos con el distrito, sexo y edad.

**Palabras clave:** *Cryptosporidium* sp, protozoo, zoonosis, prevalencia, perros.

## ABSTRACT

The objective of this study was to estimate the prevalence of *Cryptosporidium* sp. in dogs of rural communities, located in the districts of Ajoyani; province Carabaya; Palca and Santa Lucia; province Lampa, Puno. Were collected 123 fecal samples from dogs apparently healthy, of both sexes and different ages, which were between 1 month and 16 during the months of February and March 2009. Feces were transported to the Laboratory of INIA Quimsachata (Puno) where are the faecal frotices being fixed in methanol. Subsequently were transported to the Parasitology Laboratory of the FMV-Lima, for diagnosis; which was performed using the Ziehl-Neelsen modified. The overall prevalence of *Cryptosporidium* sp. was  $26.8 \pm 7.8\%$ , were found prevalences of 19.0, 28.6 and 28.4% in the districts of Ajoyani, Palca, and St. Lucia, respectively, males and females, showed prevalences of 28.3 and 17.6% respectively and according to age groups 0 -6,> 6-12,> 12-72 and > 72 months were 46.2, 31.3, 19.7, 29.4%, respectively. Was applied Chi-square test with a significance level of 0.05. Statistical analysis showed no significant association ( $p > 0.05$ ) between this protozoan of domestic dogs with the district, sex and age.

Keywords: *Cryptosporidium* sp, protozoa, zoonoses, prevalence, dogs.

## LISTA DE CUADROS

		<b>Pág.</b>
Cuadro 1.	Especies reconocidas de <i>Cryptosporidium</i> , hospedador específico predominante y localización primaria de la infección (Smith <i>et al.</i> , 2005; Xiao y Fayer, 2008).	4
Cuadro 2.	Distribución de números de muestras fecales de caninos domésticos recolectadas en distritos de las provincias de Carabaya y Lampa-Puno (febrero-marzo, 2009).	29
Cuadro 3.	Prevalencia de <i>Cryptosporidium</i> sp. en caninos, según distritos, sexo y edad de las provincias de Carabaya y Lampa-Puno mediante la técnica de Ziehl Neelsen Modificada (febrero-marzo, 2009).	34

## LISTA DE FIGURAS

		<b>Pág.</b>
Fig. 1.	Morfología al microscopio electrónico (M.E.) de un zoíto de Apicomplexa (Gállego, 2007).	6
Fig. 2.	Microfotografía de ooquistes de <i>Cryptosporidium</i> sp. técnica de Ziehl-Neelsen modificada (ZNM), un aumento de 1000X.	23

## I. INTRODUCCIÓN

La Criptosporidiosis es una enfermedad parasitaria zoonótica de distribución cosmopolita (Ortega *et al.*, 1999), producida por protozoos del género *Cryptosporidium* sp. que afectan a una gran variedad de vertebrados, incluyendo reptiles, peces, aves, mamíferos y humanos (Jubb y Kennedy, 1990; Atías, 1994), siendo frecuente entre todos los grupos de edad y tanto en individuos inmunocompetentes como inmunodeprimidos (Gállego, 2007).

Actualmente *Cryptosporidium parvum* es la especie de mayor interés dentro del género, que se multiplica preferentemente en las células epiteliales del intestino delgado de los mamíferos (Ortega *et al.*, 1999) desencadenando un proceso diarreico agudo autolimitado en individuos inmunocompetentes con una duración aproximada de dos semanas y una patología crónica en pacientes inmunodeprimidos (SIDA/VIH, cáncer, quimioterapia antineoplásica, malnutrición, etc.), pudiendo persistir hasta la muerte del hospedador (Huiza *et al.*, 2004) y debido a su escasa especificidad, puede transmitirse al humano, mamíferos diversos y ocasionalmente a gallinas (Urquhart *et al.*, 2001).

En todas las especies domésticas, los animales muy jóvenes que aún se encuentran en el periodo de lactación, son los más susceptibles a la infección que los adultos (Acha y Szyfres, 2003). En los niños, *Cryptosporidium* sp. es la tercera causa de diarrea infecciosa, generalmente después de los rotavirus y de *Escherichia coli* (De Arango *et al.*, 2006).



Los animales domésticos, en especial canes y gatos, representan significantes beneficios para las personas y para la sociedad. Ellos contribuyen en el desenvolvimiento físico, social y emocional; tanto en los niños como en sus propietarios, en particular los ancianos. Sin embargo, los animales de compañía pueden constituir una importante fuente de infección para el hombre, determinando enfermedades genéricamente denominadas zoonosis, como la criptosporidiosis (Greene, 2000; Vergara y Quilez, 2004); también pueden adquirir infecciones transmitidas por mascotas, personas carentes de cuidados sanitarios e higiene personal, así como personas inmunodeprimidas de diversos orígenes (Dabanch, 2003; Shukla *et al.*, 2006).

En Lima Metropolitana se han realizado sólo dos estudios sobre *Cryptosporidium parvum*, en animales de compañía, así Fernández evaluando gatos de diferentes edades reportó una frecuencia de 6.9% (Fernández, 1998), mientras que Romero *et al.* (2000) reportaron en caninos una frecuencia del 25.4%. Cabe mencionar que Xiao *et al.* (2007) en un estudio de cohorte longitudinal realizado en dos hermanos y su perro, reportan la presencia de *Cryptosporidium canis* durante el mismo período, donde los hermanos presentaban una diarrea transitoria, pero el perro se encontraba asintomático. Éste fue el primer reporte de la posible transmisión de la criptosporidiosis entre humanos y perros (Xiao *et al.*, 2007).

Considerándose que la criptosporidiosis es una enfermedad zoonótica e importante desde el punto de vista de salud pública, debido a las diferentes causas que favorecen su presentación en el hombre, entre ellas la relación estrecha de los niños y los perros en donde el canino desempeña un papel epidemiológico importante. El presente estudio tuvo como objetivo estimar la prevalencia de *Cryptosporidium* sp. en caninos de comunidades campesinas pertenecientes a los distritos de Ajoyani, de la provincia de Carabaya y los distritos de Palca y Santa Lucía; de la provincia de Lampa, del departamento de Puno.

## II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. GENERALIDADES DEL PARÁSITO

La Criptosporidiosis es una enfermedad parasitaria zoonótica de distribución cosmopolita (Ortega *et al.*, 1999) producida por protozoos del género *Cryptosporidium*, el cual está incluido en el phylum Apicomplexa, clase Esporozoa, subclase Coccidia, orden Eucoccidiida, suborden Eimeriina, familia Cryptosporidiidae (Ortega *et al.*, 1999; Barr, 2000).

*Cryptosporidium* es poco específico para su hospedador, afectando al aparato digestivo y respiratorio de animales vertebrados, como: reptiles, peces, aves, y mamíferos; incluyendo los humanos y caninos (Acha y Szyfres, 2003). Además es causante de un proceso diarreico agudo autolimitado en individuos inmunocompetentes con una duración aproximada de dos semanas y una patología crónica en pacientes inmunodeficientes (Pérez-Cordón *et al.*, 2005).

Este parásito, fue encontrado por primera vez por Clark en 1895 en el epitelio gástrico de ratones e identificado años después por Tyzzer, en 1907 como *Cryptosporidium muris* y en 1912 se identificó una segunda especie, denominándolo *Cryptosporidium parvum*, el cual fue localizado en el intestino delgado de un ratón de laboratorio (Guerrant, 1997; Fayer, 2004). Mientras que en 1976, se reportó como patógeno humano en un niño pequeño con enterocolitis aguda (Nime *et al.*, 1976) y sólo

se tomó conciencia del organismo a principios de la década del '80 cuando se comenzó a detectar en heces de individuos infectados con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) (Guerrant, 1997; Luján y Garbossa, 2008).

Desde que el género fue descrito por Tyzzer, más de 20 especies del género *Cryptosporidium* fueron reportadas en diferentes mamíferos hospedadores (Pérez-Cordón *et al.*, 2005). En base a la especificidad de hospedador, morfología, y la caracterización molecular, más de 15 especies son actualmente reconocidas en el género *Cryptosporidium* (Sánchez *et al.*, 2009) y más de cuarenta genotipos que aún no poseen denominación (Smith *et al.*, 2005; Xiao y Fayer, 2008). En el Perú se han identificado tres especies de *Cryptosporidium*: *C. parvum*, *C. meleagridis* y *C. felis*. Con el agregado que *C. parvum* presenta 3 cepas o genotipos: humano, bovino y canino. Los dos últimos con capacidades zoonóticas (Xiao *et al.*, 2001; Rojas, 2004). En la actualidad el genotipo humano es reconocido como *C. hominis*, el genotipo de la especie bovina rebautizado como *C. parvum*, que es transmisible entre el hombre y los vertebrados, especialmente los bovinos (Morgan-Ryan *et al.*, 2002) y el genotipo canino ahora es *C. canis* (Fayer *et al.*, 2001).

**Cuadro 1.** Especies reconocidas de *Cryptosporidium*, hospedador específico predominante y localización primaria de la infección.

<i>Especies de Cryptosporidium</i>	<i>Dimensión de los ooquistes (µm)</i>	<i>Sitio de infección</i>	<i>Hospedador</i>
<i>C. andersoni</i>	5.0–6.5 x 6.0–8.1	Estómago	Bovinos, camellos
<i>C. baileyi</i>	4.6 x 6.2	Tráquea, Bursa de Fabricio, cloaca	Pollos, pavos
<i>C. bovis</i>	4.8–5.4 x 4.2–4.8	Intestino delgado	Bovinos
<i>C. canis</i>	4.95 x 4.71	Intestino delgado	Caninos, humanos
<i>C. fayeri</i>	4.5–5.1 x 3.8–5.0	Intestino	Canguro rojo
<i>C. felis</i>	4.5 x 5.0	Intestino delgado	Gatos
<i>C. galli</i>	8.5–8.8 x 6.2–6.4	Pro ventrículos	Aves
<i>C. hominis</i>	4.4–5.9 x 4.4–5.4	Intestino delgado	Humanos, monos
<i>C. macropodum</i>	no proporcionado	Intestino	Canguro gris
<i>C. meleagridis</i>	4.5–6.0 x 4.2–5.3	Intestino delgado	Pavos
<i>C. molnari</i>	4.72 x 4.47	Estómago	Peces
<i>C. muris</i>	5.6 x 7.4	Estómago	Roedores, mamíferos
<i>C. parvum</i>	4.8–6.0 x 4.8–5.4	Intestino delgado	Rumiantes, humanos, caninos
<i>C. scophthalmi</i>	3.7–5.03 x 3.03–4.69	Intestino	Peces
<i>C. serpentis</i>	4.8–5.6 x 5.6–6.6	Estómago	Serpientes, lagartijas
<i>C. suis</i>	5.05 x 4.41	Intestino delgado	Cerdos
<i>C. varanii</i>	4.2–5.2 x 4.4–5.6	Intestino y mucosa cloacal	Lagartijas
<i>C. wrairi</i>	4.0–5.0 x 4.8–5.6	Intestino delgado	Cobayos

Fuente: Smith *et al.*, 2005; Xiao y Fayer, 2008.

Las especies de *Cryptosporidium* relacionadas con formas endémicas y epidémicas de la infección son *C. hominis* y *C. parvum*. Estas especies son responsables del 90% de los casos de criptosporidiosis en humanos. En Europa, *C. parvum* es la especie más vinculada a criptosporidiosis en humanos, mientras que *C. hominis* es prevalente en el norte de América y en algunos países de Sudamérica, África y Australia. Otras especies como *C. baileyi* (Ditrich *et al.*, 1991), *C. meleagridis*, *C. muris*, *C. felis*, *C. canis*, *C. suis* y los genotipos de ciervo, mono, caballo, conejo y zorrino han desencadenado infección en humanos, generalmente asociada al contacto directo con el hospedador (Del Coco *et al.*, 2009).

*Cryptosporidium parvum* y *Cryptosporidium canis*, se han reportado en perros en el centro de Italia, de una total de doscientos cuarenta perros, de una perrera y de propiedad privada, los que fueron analizados con PCR. La prevalencia fue del 3.3% y fue mayor en perros de la perrera y los perros con síntomas gastrointestinales. Así mismo, *Cryptosporidium parvum* fue detectada en seis perros de la perrera y un perro de propiedad privada, y *Cryptosporidium canis* fue detectado en un perro de la perrera (Giangaspero *et al.*, 2006).

## 2.2. MORFOLOGÍA DEL PARÁSITO

En cuanto a la morfología, *Cryptosporidium* presenta ooquistes pequeños de forma esférica u ovalada y contiene en su interior 4 esporozoítos periféricos, en forma de plátano y un cuerpo residual central. El ooquiste presenta una pared que puede ser fina o gruesa, lo cual se relaciona con diferentes vías de desarrollo esporogónico y de infección. La pared está compuesta por tres capas visibles al microscopio electrónico y presenta una línea de sutura por donde emergen los esporozoítos (Fayer, 2004; Del Coco *et al.*, 2009).

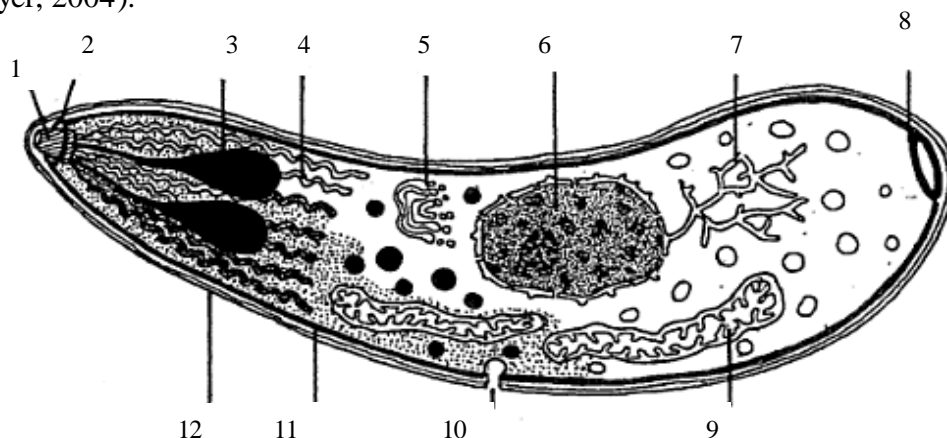
El cuerpo residual presenta elementos esenciales para la supervivencia del parásito, en su interior se encuentran una vacuola lipídica característica, inclusiones proteicas, ribosomas, citomembranas y gránulos de amilopectina, los que proveen nutrición a los esporozoítos. La concentración de amilopectina ha servido como marcador indirecto de la viabilidad, ya que a mayor tiempo y temperatura de conservación, su concentración disminuye (Del Coco *et al.*, 2009).

La estructura de los zoítos (merozoítos y esporozoítos) sólo se distinguen con el auxilio de la microscopía electrónica. Se trata de elementos de cuerpo oval alargado, con forma de coma, con el extremo apical afinado y el posterior redondeado. Los microtúbulos, situados lateralmente por debajo de la membrana plasmática o película, recorren longitudinalmente el cuerpo del zoíto.

Estos microtúbulos finalizan en sus extremos en unas estructuras anulares, el anillo polar anterior, muy próximo a su región apical, y el anillo polar posterior, cercano al extremo posterior del zoíto. Ellos permiten su desplazamiento y actúan durante el proceso de invasión. La pared está formada exclusivamente por la membrana plasmática o película en donde se abre uno o más microporos.

El complejo apical, compuesto por organelas secretorias (robtrias, micronemas, gránulos densos) y componentes no vesiculares (conoide y microtúbulos subpeliculares). Las robtrias y los micronemas le permiten al zoíto adherirse e invadir la célula del hospedador e inducirla a envolver al parásito en la vacuola parasitófora. Las robtrias son organelas de aspecto piriforme, cuyo contenido se descarga durante la internalización del parásito (Gállego, 2007; Del Coco *et al.*, 2009).

*Cryptosporidium parvum* con diámetro que varía entre 4 y 6  $\mu\text{m}$  (Barriga, 2002; Luján y Garbossa, 2008), es poco específico para su hospedador, infectando el intestino de humanos, perros, gatos, rumiantes, llama, guanaco, alpaca, cerdos, equinos, roedores, y otros mamíferos; ocasionalmente en gallinas (Urquhart *et al.*, 2001; Barriga, 2002; Fayer, 2004).



**Figura 1.** Morfología al M.E. de in zoíto. 1. Conoide, 2. Anillo polar anterior, 3. Robtria, 4. Micronemas, 5. Aparato de Golgi, 6. Núcleo, 7. Retículo endoplásmico, 8. Anillo polar posterior, 9. Mitocondria, 10. Microporo, 11. Microtúbulos subpeliculares y 12. Película.

### 2.3. CICLO BIOLÓGICO

El *Cryptosporidium* tiene un ciclo de vida típico de los coccidios, con merogonia o esquizogonia, gametogonia y esporogonia; aunque como *Sarcocystis*, la esporulación tiene lugar en el hospedador, además sus etapas de desarrollo (sexual y asexual) se completan dentro del trato gastrointestinal de un único hospedador (monoxéno) (Jubb y Kennedy, 1990).

El ciclo comienza una vez que el hospedador ingiere los ooquistes que se encuentran en el ambiente, que contienen cuatro esporozoítos, los cuales escapan a través de una fisura que se abre en la pared del ooquiste, en el tracto gastrointestinal del hospedador. Al parecer las fluctuaciones de pH en el tracto gastrointestinal, las sales biliares, la tripsina (enzima pancreática) y la temperatura corporal (en torno a 37°C) favorecen el desenquistamiento, probablemente, a causa del aumento de la permeabilidad de la pared del ooquiste, la movilidad de los esporozoítos dentro del ooquiste y la consecuente exposición de receptores (Ortega *et al.*, 1999; Luján y Garbossa, 2008).

Una vez librados, los esporozoítos alcanzan el borde luminal de los enterocitos (las microvellosidades del intestino delgado), mediante movimientos de contracción-extensión y el deslizamiento, luego se adhiere a receptores de la membrana apical de la célula del hospedador mediante diversos ligandos, GP900, P23, CP47, entre otros. Este proceso induce la reorganización del citoesqueleto de actina y la protrusión de la membrana de la célula del hospedador, alrededor del esporozoíto a manera de «dedo de guante», para formar una vacuola parasitófora, donde el microorganismo permanece en posición intracelular pero extracitoplasmática. Dentro de la vacuola, el parásito se redondea transformándose en un trofozoíto y comienza un ciclo de multiplicación asexual (merogonia o esquizogonia) y luego continúa con una multiplicación sexual (gametogonia).

Durante el ciclo de proliferación asexual se forman merontes TIPO I de los cuales emergen 8 merozoítos, que se liberan a la luz intestinal tras la ruptura de la vacuola parasitófora y penetran en las células adyacentes. Los merozoítos del tipo I pueden generar nuevas merogonias de primera generación o formar merontes del tipo II, que contiene 4 merozoítos. La reproducción sexuada o gametogonia se inicia cuando

éstos últimos parasitan nuevas células dando lugar a la formación de macrogamontes, que luego se transforma en gametos femeninos o macrogametos y unos pocos se transforman en microgamontes, que contiene 16 microgametos en su interior (Ortega *et al.*, 1999; Smith *et al.*, 2005; Sánchez *et al.*, 2009).

Los macrogametos poseen cuerpos formadores de la pared en la periferia, mientras que los microgametos carecen de flagelo y se dirigen hacia los macrogametos siguiendo el flujo intestinal o mediante la contracción y extensión de los microtúbulos intracitoplasmáticos. La fertilización se acompaña de la penetración del microgameto, a través de la vacuola parasitófora y de la membrana del microgameto. Luego se inicia el proceso de esporogonia mediante dos divisiones asexuales del cigoto, formando un ooquiste que contiene cuatro esporozoítos infectivos (Ortega *et al.*, 1999; Vergara y Quilez 2004; Luján y Garbossa, 2008).

La formación de la pared del ooquiste acontece antes que la esporulación (formación de 4 esporozoítos) donde el 80% de los ooquistes presenta una doble cubierta (se denomina ooquiste de pared gruesa), constituyendo las formas de resistencia que encontramos en el ambiente y cuando se eliminan con las heces son directamente infectantes. Los ooquistes de pared fina (20%) están rodeados de una sola unidad de membrana y son los responsables de la autoinfección; su pared, relativamente débil. Éstos liberan los esporozoítos en la luz intestinal y pueden ingresar en nuevos enterocitos, reiniciándose el ciclo de merogonia, gametogonia y esporogonia produciéndose la autoinfección endógena, que permite la persistencia de la infección (Ortega *et al.*, 1999).

Si bien se asume que la localización normal en un hospedador inmunocompetente es el tracto gastrointestinal, en individuos inmunodeprimidos se han descrito fases extraintestinales en vías aéreas (bronco pulmonar), árbol biliar, hígado, vejiga y páncreas (Luján y Garbossa, 2008).

El periodo de prepatencia en los rumiantes domésticos es de 3-4 días, aunque puede ser superior cuando la dosis infectante es baja o conforme se incrementa la edad del animal en el momento de la primoinfección, donde puede prolongarse hasta 6-7 días (Ortega *et al.*, 1999; Quilez *et al.*, 2003), en perros 2-14 días, en alpacas de 3-4 días y en humanos de 5-21 días. La duración del periodo de eliminación de ooquistes (periodo

patente) es de 3-33 días en perros, en alpacas 11-14 días y en humanos de 8-31 días, aunque puede prolongarse de forma intermitente (Ortega *et al.*, 1999; Rojas, 2004; De la Parte-Pérez *et al.*, 2005).

## 2.4. EPIDEMIOLOGÍA

### 2.4.1. PREVALENCIA DE CRIPTOSPORIDIOSIS

La criptosporidiosis es una enfermedad parasitaria producida por protozoos del género *Cryptosporidium* sp. que afectan a una gran variedad de vertebrados, que se añade a la larga lista de zoonosis parasitarias (Ortega *et al.*, 1999; Vergara y Quilez, 2004), siendo frecuente entre todos los grupos de edad y tanto en individuos inmunocompetentes como inmunodeprimidos (Gállego, 2007). Los más susceptibles a adquirir infecciones transmitidas por mascotas son los niños, ancianos, personas carentes de cuidados sanitarios e higiene personal y personas inmunodeprimidas de diversos orígenes (Dabanch, 2003; Shukla *et al.*, 2006). También se da en domicilios de pacientes infectados, guarderías de niños, homosexuales sanos, el personal médico, y personas que viajan a países en desarrollo, esto indica que *Cryptosporidium* es altamente infeccioso y transmisible de persona a persona (Barr, 2000).

Actualmente *Cryptosporidium parvum* es reconocido como uno de los principales causantes de infección gastrointestinal y diarrea, sobre todo en enfermos con algún grado de disfunción inmunológica. En los niños, *Cryptosporidium* sp. es la tercera causa de diarrea infecciosa, generalmente después de los rotavirus y de *Escherichia coli* (De Arango *et al.*, 2006).

En la especie humana, la prevalencia es mayor en las áreas menos desarrolladas (Asia, África y América del Sur) con porcentajes entre 3 y 20%, con especial repercusión en la población infantil (Ortega *et al.*, 2000), a diferencia de los países industrializados donde varía entre 1 y 4.5%, en los cuales la población tiene acceso a mejores servicios sanitarios y agua de bebida más limpia que en los países menos desarrollados (López-Vélez *et al.*, 2008; Luján y Garbossa, 2008). Además las prevalencias son mayores en casos diarreicos (58%), que en heces normales (< del 10%) (Rojas, 2004).



En varias encuestas se encontró que la prevalencia de ooquistes en las heces varía de 1 a 2% en Europa (Acha y Szyfres, 2003), de 0.3 a 4.3% en América del Norte hasta cifras que cubren el rango de 3.2 a 31.5% en América Central y del Sur (Luján y Garbossa, 2008). Y estudios seroepidemiológicos reportan prevalencias de más de 50% en América Latina y China (Botero y Restrepo, 2006). Estudios realizados en niños de 1 a 14 años, en una ciudad urbana de Argentina, reportaron una prevalencia de 1.3%, a pesar de que disponían en sus domicilios de agua potable de red y sanitarios completos (Salomón *et al.*, 2007).

En una población rural mexicana encontraron en niños entre 1 y 15 años de edad, sin diarrea; frecuencias de 7.5% (10/132), en niños con desnutrición (9.8%) y sin desnutrición (4.9%) ( $p = 0.23$ ). El 69.7% de los niños cursaba con algún tipo de parasitosis. La ingesta de agua no intubada, el hacinamiento y la diarrea en familiares se asociaron significativamente con la infección por *C. parvum*, y la desnutrición no fue un factor de riesgo estadísticamente significativo (Solorzano-Santos *et al.*, 2000). Mientras que en comunidades rurales del antiplano -Bolivia- reportan una prevalencia alta de 31.6% en niños aymaras entre 5 y 19 años (Botero y Restrepo, 2006).

En nuestro país se halló prevalencias de 58% (87/150) en niños de hasta 2 años de edad -San Juan de Miraflores, Lima- (Castillo *et al.*, 2000) y en niños entre 7 meses y 7 años, aparentemente sanos y provenientes de un asentamiento humano de Lima Metropolitana, hallaron una prevalencia del 3.8% (Huiza *et al.*, 2004).

Entre las personas inmunocompetentes, son los niños de corta edad (1-5 años) y sobre todo los colectivos infantiles que conviven en guarderías o jardines de infancia, los que arrojan las mayores prevalencias de infección; que en España oscilan según diferentes encuestas, entre 0.5-8% (Gállego, 2007).

Entre las personas que ingresan a hospitales con gastroenteritis, entre 4 y 7% tienen criptosporidiosis y son más comunes las infecciones durante los meses cálidos y húmedos (Barr, 2000).

Así mismo estudios de la infección por *Cryptosporidium parvum* en animales, reporta prevalencias del 80% en terneros de menos de un mes y 62% en vacunos adultos asintomáticos. Esto muestra que los vacunos desarrollan suficiente inmunidad como para evitar la patología, pero no para eliminar la infección (Barriga, 2002).

En Canadá reportan una prevalencia de 41% para *Cryptosporidium parvum* en terneros lecheros menores de 21 días en 51 fincas del este de Ontario (Trotz-Williams *et al.*, 2005) y en un estudio epidemiológico realizado en 89 explotaciones de la provincia de Zaragoza sobre un total de 583 corderos de 1 a 3 meses de edad, encontraron una prevalencia del 59% y que la infección es significativamente más frecuente en los corderos de 1 a 21 días (66.4%) que en los de 22 a 90 días (23%) y la prevalencia es máxima en corderos de 8 a 14 días (76.2%) (Causapé *et al.*, 2002).

En alpacas neonatales (1 a 15 días de nacidos) de cuatro localidades del departamento de Puno, hallaron una frecuencia, para *C. parvum*, de 34% (165/487) y el 79% (130/165) de los animales positivos resultaron diarreicos (Molina *et al.*, 2009); también en localidades de la provincia de Canchis, Cusco reportaron frecuencias de 16% (78/479) y el 74% (58/78) de los animales positivos resultaron diarreicos (Villacorta, 2007); ambos estudios fueron realizadas durante la temporada de parición de alpacas, entre los meses de febrero y marzo.

Estudios realizados en zonas urbanas de Chile reportan una prevalencia de 1.9% en muestras obtenidas de diversas clínicas veterinarias y de los Servicios de Higiene Ambiental (Gorman *et al.*, 2006); mientras que en la ciudad de São Paulo, reportan una prevalencia de 8.8% para *Cryptosporidium* sp. en caninos provenientes de un hospital veterinario universitario público y de perreras particulares (Lallo y Bondan, 2006), en la ciudad de Tunja-Colombia reportaron una frecuencia de 16.4% en muestras provenientes de tres consultorios veterinarios, donde se observó mayor frecuencia en animales con diarrea (OR=2.99, p=0.01) (Rodríguez *et al.*, 2009); así como 6.3% en caninos alojados en refugios después de su captura del área metropolitana de Barcelona (Gracenea *et al.*, 2009).

Mientras que en nuestro país se han realizado sólo dos estudios sobre frecuencia de *Cryptosporidium parvum* en mascotas, teniendo la realizada en gatos de varias edades, por Fernández, quien reportó una frecuencia de 6.9% (Fernández, 1998) y en caninos encontraron una frecuencia de 25.4% (Romero *et al.*, 2000) ambos realizados en diferentes distritos de Lima Metropolitana. En todos los casos emplearon la técnica de Ziehl-Neelsen modificada.

Además, reportaron la presencia de *Cryptosporidium parvum*, en un estudio realizado en heces de caninos saludables, de zonas urbanas y rurales, de Lavras y Viçosa, Estado de Minas Gerais; Brasil, donde hallaron una frecuencia de 1.9% (5/269), mediante ELISA directo. En este estudio no hubo diferencia entre la frecuencia de excreción para caninos de área urbana y rural (Figueiredo *et al.*, 2004).

#### 2.4.2. FUENTES DE CONTAGIO Y VÍAS DE TRANSMISIÓN

En mamíferos la infección por *C. parvum* es adquirida por ingestión (inhalación) del ooquiste infectivo. La fuente de contagio son individuos de la misma especie (enfermos o portadores sanos) como individuos de otras especies en las que se ha demostrado la infección (Ortega *et al.*, 1999; Luján y Garbossa, 2008).

En los rumiantes domésticos, la principal fuente de infección son las heces excretadas por los animales neonatos con diarrea (en esta fase se presenta un elevado número de ooquistes excretados), por esta circunstancia, la prevalencia suele ser superior en explotaciones con un elevado número de neonatos aunque también hay que considerar la eliminación de ooquistes por los animales adultos que actúan como portadores asintomáticos (Ortega *et al.*, 1999; Quilez *et al.*, 2003).

Las infecciones cruzadas son frecuentes en el caso de *C. parvum*; y el hombre puede contraer la infección por contacto con las heces de otras personas, perros, gatos, rumiantes, cerdos, equinos (Barr, 2000; Acha y Szyfres, 2003). En humanos, se ha demostrado la transmisión entre miembros de la familia, entre parejas sexuales, en guarderías, y entre pacientes y personal sanitario en hospitales (Rodríguez y Royo, 2001).

La transmisión indirecta por los alimentos (frutas, verduras, zumos de frutas, moluscos, leche incorrectamente pasteurizada, etc.) y el agua, contaminados con ooquistes, también deben considerarse; sobre todo desde el punto de vista de la salud pública. Siendo cada vez más frecuente los hallazgos de *Cryptosporidium* en aguas para consumo humano y su asociación con brotes de diarrea en la población inmunocompetente (Ortega *et al.*, 1999; Vergara y Quilez, 2004).

En estos últimos diez años, se ha observado un aumento en la descripción de brotes diarreicos en los países desarrollados debido al consumo de agua contaminada con ooquistes (Ortega *et al.*, 1999). De hecho, la epidemia más grande registrada, que afectó a casi medio millón de personas fue en Wisconsin en 1993, debido a la falla de una planta de tratamiento de agua potable (Robbins, 2000; Barriga, 2002). Así mismo, se debe destacar los brotes de criptosporidiosis asociados al uso lúdico del agua de piscinas, parques acuáticos, lagos, etc., que en los últimos 12 años han afectado a más de diez mil personas en los Estados Unidos y que han sido favorecidos por factores como la frecuente contaminación del agua, la resistencia de los ooquistes al cloro, la baja dosis infectante y la elevada densidad de bañistas en determinadas épocas del año (Vergara y Quilez, 2004).

#### 2.4.3. FACTORES EPIDEMIOLÓGICOS ASOCIADOS AL PARÁSITO

##### a) Resistencia de los ooquistes

Los ooquistes de *Cryptosporidium* son infectantes desde el momento de ser excretados con las heces y están perfectamente adaptados para la supervivencia en el medio ambiente, siendo muy resistente a las condiciones variables de éste, con la única excepción de la desecación y la congelación; pudiendo conservar su infectividad durante 2-6 meses a 4 °C (Ortega *et al.*, 1999).

Además estudios realizados en laboratorios han demostrado que muchos ooquistes se mantienen viables en soluciones acuosas entre 3 y 6 meses a temperatura ambiente (15-20°C), siendo necesario temperaturas extremas para inactivarlos. A -15°C algunos ooquistes pueden mantenerse infectantes hasta 7 días y se precisan temperaturas de -20°C y -70°C durante 8 y 1 hora, respectivamente, para asegurar su destrucción. Los ooquistes son igualmente resistentes a temperaturas elevadas, aunque son inactivados a 70°C durante 1 minuto. La pasteurización de la leche, a 71.7°C durante 15 segundos, también asegura su destrucción, al igual que la desecación durante 4 horas. Por este motivo, las condiciones higiénicas deficientes también son el origen de numerosos brotes (Quilez *et al.*, 2003).

Ya se ha mencionado la extrema resistencia de los ooquistes a diversos factores a los que cabe añadir los métodos de potabilización del agua. Así, los niveles de cloración utilizados habitualmente no destruyen los ooquistes de *C. parvum*, cuya supervivencia en el agua de bebida se ha estimado en torno a 175 días, por lo que se considera uno de los microorganismos de transmisión hídrica más resistentes. En comparación con los quistes de otros enteropatógenos como *Giardia duodenalis*, se ha demostrado que la resistencia de los ooquistes de *C. parvum* es hasta 14 y 30 veces superior a desinfectantes como el cloro o el ozono, respectivamente (Quilez *et al.*, 2003).

La extracción física de los ooquistes durante el proceso de potabilización del agua puede conseguirse mediante filtros de arena y la ayuda de coagulantes, aunque el elevado número de brotes de criptosporidiosis humana de transmisión hídrica que se han descrito hasta el momento, permite concluir que éstos métodos no son completamente eficaces en la separación o inactivación de los ooquistes (Ortega *et al.*, 1999; Barriga, 2002; Quilez *et al.*, 2003). Así las plantas procesadoras de agua potable que tienen filtros de arena, remueven 91 a 99.8% de los ooquistes, pero las que no tienen éstos filtros remueven sólo 74 a 78% (Barriga, 2002).

#### **b) Dosis infectante y características del aislado**

La infección no es dependiente de la dosis infectante, sin embargo, el periodo de prepatencia se alarga en infecciones experimentales con dosis bajas. La dosis mínima infectante en corderos puede ser un sólo ooquiste (Ortega *et al.*, 1999), mientras que en primates la dosis infectiva puede ser de 10 ooquistes y en humanos se reporta en adultos voluntarios sanos, la dosis infectiva media es de 132 ooquistes, aunque algunas personas pueden ya infectarse con tan sólo uno a 10 ooquistes (Steiner *et al.*, 2002).

Las diferencias de virulencias entre aislados han sido atribuidas a la posible existencia de variaciones entre cepas y a variaciones en la receptividad del hospedador. Recientemente, se ha demostrado diferencias genéticas y proteicas entre aislados (Ortega *et al.*, 1999).

#### 2.4.4. FACTORES EPIDEMIOLÓGICOS ASOCIADOS AL HOSPEDADOR

##### a) **Especie**

La mayoría de las especies de *Cryptosporidium* tienen algo de especificidad al hospedador, pero no son estrictamente de acogida específica. Por ejemplo, *Cryptosporidium parvum* tiene una escasa especificidad de hospedador, por ello puede transmitirse indistintamente entre humanos, rumiantes, llama, guanaco, alpaca, perros, gatos, cerdos, roedores y otros mamíferos; siendo reportado en 155 especies de mamíferos (Barriga, 2002; Fayer, 2004). Otros, incluyendo *C. baileyi* (Ditrich *et al.*, 1991), *C. canis*, *C. felis*, *C. meleagridis* y *C. muris*, se creía que eran de acogida específica para las gallinas, perros, gatos, pavos y ratones, respectivamente, pero se ha encontrado que pueden infectar a los seres humanos y por lo tanto también deben considerarse zoonóticos; y los seres humanos son los hospedadores primarios de *C. hominis* (Fayer, 2004).

##### b) **Edad**

La criptosporidiosis en el hombre es frecuente entre todos los grupos de edad (Gállego, 2007), aunque los niños pequeños parecen ser más susceptibles a la infección, probablemente debido al mayor riesgo de transmisión fecal-oral, a la relativa inmadurez inmunológica y a la falta de inmunidad por exposición previa (Torres-Olave *et al.*, 2008).

Un estudio realizado en niños que consultaron un hospital local colombiano, con edades comprendidas entre 1 mes y 12 años, encontraron un 46.8% (81/173) de muestras positivas a *Cryptosporidium* sp. y con mayor frecuencia entre quienes asistían a guarderías (De Arango *et al.*, 2006).

Presentándose también en todas las especies domésticas, en especial en los animales muy jóvenes, que todavía están en periodo de lactación; éstos son más susceptibles a la infección y a la enfermedad, que los adultos. En terneros, la infección aparece en las tres primeras semanas de vida (Acha y Szyfres, 2003); mientras que en corderos y cabritos tienen una máxima receptividad a la infección durante las primeras semanas de vida, produciéndose un marcado descenso en la gravedad de los síntomas y

del número de ooquistes eliminados, conforme se incrementa la edad de los animales. Pasando la infección desapercibida en animales infectados con dos meses.

Por otra parte, puede existir eliminación de ooquistes por los animales adultos que actúan como portadores asintomáticos y posibilita el mantenimiento de la infección en la explotación entre parideras sucesivas. Aunque la cantidad de ooquistes que eliminan éstos animales al medio es generalmente baja, sin embargo parece suficiente para infectar a los corderos y cabritos recién nacidos, que son los que posteriormente amplifican la infección (Ortega *et al.*, 1999; Quilez *et al.*, 2003).

### **c) Estado inmunitario**

La gravedad de la enfermedad depende de la capacidad inmunitaria del hospedador (Barr, 2000). La criptosporidiosis en el hombre es frecuente en individuos inmunocompetentes, con un proceso diarreico agudo autolimitado, como inmunodeprimidos (Pérez-Cordón *et al.*, 2005; Gállego, 2007), en éstos últimos los síntomas son más severos pudiendo persistir hasta la defunción del enfermo (Barriga, 2002; Acha y Szyfres, 2003), presumiblemente debido a la fuerte autoinfección (Urquhart *et al.*, 2001).

En un estudio realizado en 217 pacientes con VIH-SIDA y diarrea, que acudieron al Hospital Nacional Cayetano Heredia, y cuyas edades estaban entre 15-68 años, encontraron que la parasitosis más prevalente fue la criptosporidiosis (18.9%), hallazgo que coinciden con lo descrito en la literatura mundial (García *et al.*, 2006).

Se han descrito en animales de compañía, generalmente asociados a estados de inmunosupresión como el moquillo canino, parvovirus en perros; así como linfoma gastrointestinal (Ortega *et al.*, 1999; Barr, 2000).

### **d) Ingestión de calostro**

Los anticuerpos calostrales producidos en respuesta a la infección natural no tienen un efecto protector frente a la infección neonatal en terneros y corderos. Sin embargo, el calostro hiperinmune producido por inmunización de las madres con altos títulos de anticuerpos específicos puede proteger de manera parcial, frente a la

infección, disminuyendo el periodo de duración de la diarrea y la eliminación de ooquistes (Ortega *et al.*, 1999).

#### 2.4.5. FACTORES EPIDEMIOLÓGICOS ASOCIADOS AL MEDIO AMBIENTE

La transmisión de la criptosporidiosis se produce por ingestión de ooquistes eliminados previamente con las heces de otros animales parasitados que contaminan el medio ambiente. En los rumiantes domésticos, durante el período de máxima eliminación, los neonatos infectados pueden excretar entre  $10^6$ - $10^7$  ooquistes por gramo de heces, mientras que los corderos y cabritos parasitados pueden eliminar en torno a  $10^{10}$  ooquistes durante todo el período de patencia. Por ello la incidencia de nuevos casos es superior al final de la época de partos, como consecuencia de la contaminación progresiva de la explotación a lo largo de la paridera, por el gran número de nacimientos que ocasionando con frecuencia el hacinamiento de los animales y las condiciones higiénicas deficientes, se consideran factores de riesgo (Ortega *et al.*, 1999; Quilez *et al.*, 2003).

En las ovejas, se ha demostrado que la eliminación de ooquistes es significativamente mayor durante el periparto, como consecuencia de la inmunodepresión que parece originar los cambios hormonales durante el parto y la lactación, estimulándose que cada oveja parasitada pueda eliminar diariamente al menos durante este período, entre 20 000 y 440 000 ooquistes y la morbilidad suele alcanzar el 100% al final de la paridera, cuando el medio se encuentra altamente contaminado (Quilez *et al.*, 2003).

Además, que en ambientes moderadamente fríos y húmedos, los ooquistes probablemente sobreviven por varios meses (Barriga, 2002); pues son muy resistentes a las condiciones ambientales, entre 30 y 600 veces más que los quistes de *Giardia* sp. (Barriga, 2002). También se encuentra presente en el agua de ríos, lagos, parques acuáticos, incluso en aguas para consumo humano si es que no tiene un buen procesamiento en la planta de potabilización (Vergara y Quilez, 2004). Así en el río Vilcanota en Cusco (Perú) encontraron una frecuencia de 11.5% para *Cryptosporidium* sp. (Ataucocha *et al.*, 2000).



## 2.5. SIGNOS CLÍNICOS

### a) Humanos

La duración y severidad de los síntomas clínicos son variables y dependen en gran parte de la edad y del estado inmunológico de la persona infectada (Chen *et al.*, 2002; Luján y Garbossa, 2008).

En individuos inmunocompetentes la criptosporidiosis es asintomática o cursan como una enfermedad autolimitante, caracterizada por diarrea acuosa, profusa y de mal olor. Los síntomas comienzan explosivamente uno o dos semanas después de la infección, pueden ser intermitentes y durar entre 8-20 o hasta 30 días. A menudo hay dolor abdominal, náusea, vómito, anorexia, fiebre leve de menos de 39°C y pérdida de peso (Acha y Szyfres, 2003; Reyes *et al.*, 2004), además la importante pérdida de fluidos puede provocar una deshidratación intensa.

En las personas inmunodeficientes (ejemplo: con infecciones virales como sarampión y SIDA; en pacientes con cáncer, transplantados con tratamiento inmunosupresor, con malnutrición u otras enfermedades que afectan al sistema inmunológico) (López-Vélez *et al.*, 2008); los síntomas son más severos, con diarrea acuosas, profusa y con una frecuencia de 50 o más deposiciones y pérdidas de hasta 25 litros de agua por día (Acha y Szyfres, 2003); pudiéndose convertir en una enfermedad crónica y prolongarse desde meses hasta años (Luján y Garbossa, 2008) principalmente en pacientes con SIDA; pues en éstos pacientes la enfermedad puede persistir hasta la defunción del enfermo (Acha y Szyfres, 2003; López-Vélez *et al.*, 2008).

### b) Animales

En los animales el principal signo clínico es la diarrea, asociada a la excreción de un gran número de ooquistes en las heces (Ortega *et al.*, 1999). En condiciones naturales, la mayoría de los animales se infectan durante los primeros días de vida, por lo que los brotes de la enfermedad se manifiestan durante el período neonatal;

especialmente entre la primera y tercera semana de vida (Quilez *et al.*, 2003). Generalmente en rumiantes se presenta diarrea, tenesmo, anorexia, pérdida de peso, dolor abdominal, fiebre, depresión y deshidratación (Jubb y Kennedy, 1990; Barriga, 2002).

La consistencia de las heces varía según los casos entre heces aparentemente formadas, a casos de diarrea profusa con consistencia acuosa. El color de las heces suele ser amarillento y no es frecuente la presencia de sangre.

No existen signos patognomónicos que diferencien a la criptosporidiosis de procesos causados por otros enteropatógenos (Ortega *et al.*, 1999), además cuando el *Cryptosporidium* es el único agente activo, la enfermedad es moderada y menos fatal (Quilez *et al.*, 2003).

En perros, la infección suele ser asintomática (Nelson y Couto, 2006), en algunos casos puede aparecer cuadros diarreicos. Se ha descrito asociado con condiciones de estrés e inmunodeficiencias (Robertson *et al.*, 2000; Morgan. *et al.*, 2003), como: el moquillo canino, parvovirus, linfoma gastrointestinal; así como asociado a virus entéricos (*Rotavirus*), bacterias (*Campylobacter*, *Salmonella*) y otros protozoos (*Giardia*) (Ortega *et al.*, 1999). Es menos frecuente diarrea de intestino grueso (crónica) y vómitos crónicos (Morgan. *et al.*, 2003).

## 2.6. LESIONES

En la mayoría de los rumiantes neonatos infectados, a la necropsia se observan signos de caquexia y deshidratación. En la cavidad abdominal se puede apreciar atrofia de la grasa mesentérica e infarto de los ganglios regionales (Ortega *et al.*, 1999). El abomaso frecuentemente contiene coágulos de leche sin digerir y presenta una enteritis catarral aguda, con congestión y edema del intestino afectado, que aparece distendido por la acumulación de gas y con un contenido generalmente amarillento y acuoso. El intestino delgado es la porción más afectada, sobretodo el yeyuno e íleon (Quilez *et al.*, 2003).

El estudio histológico demuestra, en todas las especies domésticas, la atrofia de vellosidades intestinales, con frecuentes fusiones entre ellas mediante la formación de

desmosomas. El epitelio columnar de las vellosidades intestinales es sustituido por células inmaduras (cuboidales), con núcleos desordenados y superficie irregular. Las microvellosidades de las células parasitadas aparecen destruidas, mientras que en las criptas de Lieberkühn se encuentran con hiperplasia y figuras mitóticas. La lámina propia aparece infiltrada de polimorfonucleares (neutrófilos) y mononucleares (macrófagos y linfocitos). Las lesiones microscópicas en el intestino grueso son menos frecuentes, aunque puede estar afectado de forma focal, con presencia de epitelio columnar bajo o cuboide, núcleos no alineados y superficie irregular (Jubb y Kennedy, 1990; Ortega *et al.*, 1999; Quilez *et al.*, 2003).

## 2.7. PATOGENIA

Los mecanismos fisiopatológicos que desencadenan el cuadro diarreico en las infecciones por *C. parvum* no se conocen en su totalidad, aunque es evidente que la mucosa intestinal padece lesiones directas provocadas por la invasión del parásito en los enterocitos apicales, produciendo atrofia y fusión de las vellosidades intestinales, y la pérdida de enzimas digestivas del borde luminal (Quilez *et al.*, 2003; Sánchez *et al.*, 2009).

En condiciones normales, las microvellosidades del enterocito amplifican 20 veces la superficie de absorción, por lo que su destrucción origina una reducción considerable de la misma (Ortega, *et al.*, 1999) y se acompaña de una acción reparadora de las criptas intestinales, con sustitución de los enterocitos dañados por una población celular inmadura y con baja capacidad enzimática y de absorción. El conjunto de todos éstos factores desencadena un proceso de malabsorción y alteraciones en la actividad enzimática de las células que originan una diarrea por absorción y digestión deficiente (Quilez *et al.*, 2003). La malabsorción puede hacerse patente incluso antes de que se produzca la atrofia de vellosidades debido a la reducción de las enzimas unidas a la membrana, fundamentalmente la lactasa (Ortega, *et al.*, 1999).

Los azúcares no absorbidos, en particular la lactosa, se degradan en el intestino produciendo ácidos volátiles que dan lugar a cambios en la presión osmótica y originan el flujo masivo de líquidos hacia la luz del intestino, contribuyendo al cuadro diarréico. Además de las lesiones estrictamente mecánicas asociadas al desarrollo endógeno del

parásito, el incremento del número de células jóvenes con capacidad secretora en las criptas se traduce en la hipersecreción de fluidos a la luz intestinal, considerándose un mecanismo adicional de patogenicidad (Quilez *et al.*, 2003).

Además, el sistema inmunitario del hospedador, en respuesta mediada por citoquinas estimuladas por el parásito invasor, ejerce efecto amplificador sobre la respuesta secretora. Los macrófagos que infiltran la lámina propia secretan factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), el cual estimula a los fibroblastos y otras células de la lámina propia para producir prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>), la cual tiene efecto estimulador de la secreción de cloro (Cl<sup>-</sup>) e inhibe la reabsorción de cloruro de sodio (NaCl). En el caso de que la respuesta del hospedador fuese a predominio de infiltrado de polimorfonucleares, neutrófilos, tendríamos estimulación de la síntesis de prostaglandinas y otros productos derivados de los neutrófilos como radicales libres de oxígeno, los cuales también estimulan la secreción intestinal (De la Parte-Pérez *et al.*, 2005).

## 2.8. DIAGNÓSTICO

Los signos clínicos de la criptosporidiosis, no son específicos y pueden ser producidos por otras patologías entéricas de origen infeccioso (bacterias, virus), parasitario o ambos; causando diarreas y aunque los datos epidemiológicos y la sintomatología nos ayudan a comprender la gravedad del proceso, siempre es imprescindible recurrir al diagnóstico etiológico de tipo laboratorial (Ortega *et al.*, 1999).

Actualmente no se realiza el diagnóstico histológico *in vivo* por su carácter invasivo, alto costo y a su escasa sensibilidad (Ortega *et al.*, 1999). Realizándose habitualmente la detección de ooquistes en muestras de heces, aunque el pequeño tamaño de los ooquistes y su similitud con diversas levaduras exige el empleo de técnicas coprológicas y tinciones específicas (Quilez *et al.*, 2003).

La técnica más sencilla consiste en la tinción de extensiones de heces, con objeto de facilitar la visualización del parásito, bien porque sea el ooquiste que capte el colorante, o bien por que sea el medio el que adquiera el color; las técnicas de concentración permiten examinar una mayor cantidad de heces y facilitan la

identificación de los ooquistes al separar los restos fecales. En este grupo se incluyen las técnicas de flotación con diferentes soluciones (sacarosa de Sheather, sulfato de zinc, sulfato magnésico, cloruro sódico), siendo aconsejable en este caso el empleo de microscopio de contraste de fases para identificar los ooquistes; así como las técnicas de sedimentación con formol-éter o formol-acetato de etilo, que ofrecen la posibilidad de identificar el parásito en visión directa o realizar tinciones diferenciales (Quilez *et al.*, 2003).

Entre las técnicas de tinción más usadas se encuentran las tinciones diferenciales, basadas en las propiedades ácido-resistentes de los ooquistes (Ziehl-Neelsen modificada, safranina modificada), las tinciones negativas, entre las que destaca la tinción de Heine que tiñen las levaduras y las bacterias pero no los ooquistes y las tinciones fluorescentes, con fluorocromos como auramina-rodamina, que requieren el empleo de microscopio de fluorescencia (Ortega *et al.*, 1999; Quilez *et al.*, 2003; Luján y Garbossa, 2008).

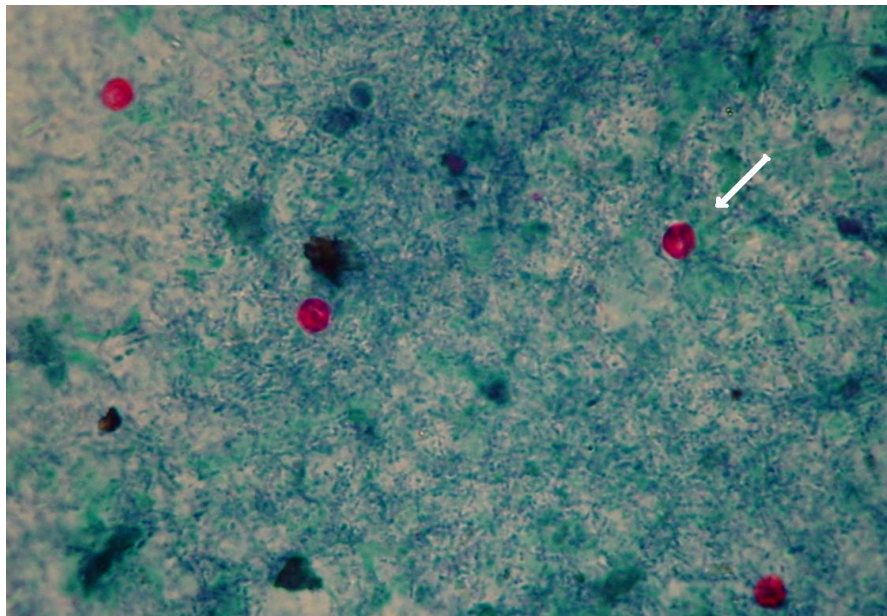
La técnica de Ziehl-Neelsen modificada ha demostrado tener una alta sensibilidad y especificidad para la detección de ooquistes de *Cryptosporidium* sp. (Weitz y Astorga, 1993) y de sensibilidad similar con la tinción de auramina-rodamina (Atías, 1994).

Las técnicas inmunológicas permiten identificar los ooquistes en frotis fecales directos o concentrados mediante técnicas de inmunofluorescencia o ELISA utilizando anticuerpos monoclonales o policlonales frente a componentes de la pared. Este tipo de técnicas, especialmente las de inmunofluorescencia con anticuerpos monoclonales resultan especialmente sensibles, por lo que son las más aconsejables para procesar muestras con escaso número de ooquistes, aunque requiere de un microscopio de fluorescencia, además de estar fuera del alcance de la mayoría de las clínicas en la América Latina (Barriga, 2002; Quilez *et al.*, 2003; Sánchez *et al.*, 2009).

Diversos laboratorios han puesto a punto recientemente técnicas basados en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para detectar la presencia de ooquistes del parásito en diversos tipos de muestras, que poseen como principal ventaja una sensibilidad elevada y resultan especialmente idóneas para el procesamiento de muestras con escaso número de ooquistes o para caracterizar especies y genotipos de

*Cryptosporidium*. No obstante, son técnicas laboriosas que requieren una infraestructura costosa, por lo que su empleo está restringido a algunos laboratorios y no se utilizan rutinariamente para realizar el diagnóstico de la infección en los animales.

La infección en humanos y animales da lugar a la formación de anticuerpos séricos específicos que se pueden detectar utilizando diversas técnicas serológicas como inmunofluorescencia o ELISA. Este tipo de técnicas son útiles en estudios epidemiológicos para determinar la exposición previa de los animales al parásito, pero habitualmente no permiten realizar el diagnóstico de infecciones patentes, puesto que los anticuerpos son detectables después de que ha cesado la eliminación de ooquistes (Quilez *et al.*, 2003).



**Fig. 2.** Microfotografía de ooquistes de *Cryptosporidium* sp. Técnica de ZNM, un aumento de 1000X.

## 2.9. TRATAMIENTO

A pesar del elevado número de antibióticos o antiprotozoarios que se han evaluado, en la actualidad no se dispone de un fármaco que sea realmente eficaz para el tratamiento de la criptosporidiosis en humanos y animales (Quilez *et al.*, 2003; De la Parte-Pérez *et al.*, 2005).

La paromomicina antibiótico del grupo de los aminoglucósidos, con escasa absorción por la vía gastrointestinal, parece ser prometedor en el tratamiento de la criptosporidiosis. En un estudio controlado del tipo placebo y doble ciego, utilizando la paromomicina en pacientes con criptosporidiosis intestinal y SIDA, demostró su eficacia para reducir la sintomatología y disminuir la excreción de ooquistes (White *et al.*, 1994; De la Parte-Pérez *et al.*, 2005) a una dosis 0.5 g/6 horas (niño 7.5 mg/Kg/día) oral, por 7-14 días (Mensa *et al.*, 2008). Se ha recomendado para perros (125 a 165 mg/Kg/12 horas, por 5 días). En los casos severos se debe administrar terapia de apoyo (Barriga, 2002).

La azitromicina también ha sido probada para el tratamiento de la criptosporidiosis. Estudios clínicos previos han fallado en demostrar su efectividad como monoterapia, sin embargo algunos informes sobre casos clínicos le otorgan algún valor como droga para tratamiento. Altas dosis de azitromicina en combinación con paromomicina en un estudio demostró mayor disminución de la excreción de ooquistes que cuando se usaron por separado (De la Parte-Pérez *et al.*, 2005). Se ha utilizado una combinación de paromomicina (1g dividido en dos tomas, vía oral) y azitromicina (600 mg/día, vía oral) durante 4 semanas, seguidas de monoterapia con paromomicina durante 8 semanas (Flynn, 2004).

En un estudio realizado en tres caninos donde usaron un tratamiento con azitromicina a una dosis de 7 mg/kg/12 horas, durante siete días y posterior al tratamiento se realizó nuevamente el análisis coproparasitológico con la técnica de Faust, en donde todos los casos el resultado fue negativo, por lo que puede considerarse una alternativa terapéutica para esta enfermedad (Hernández *et al.*, 2008) y se instaura el tratamiento de soporte con líquidos intravenosos cuando sea necesario (Morgan *et al.*, 2003).

La nitazoxanida otro quimioterápico utilizado en el tratamiento de la criptosporidiosis intestinal (De la Parte-Pérez *et al.*, 2005), el cual está aprobada para uso en niños y adultos inmunocompetentes (Rossignol, 2010); la dosis recomendada es de 100 mg (5 ml) para los niños entre 12 y 47 meses, 200 mg (10 ml) para aquellos entre 4 y 11 años y 500 mg para los niños mayores de 12 años y adultos, en los tres casos cada 12 horas durante 3 días.

Un estudio controlado con placebo realizado en Egipto en niños y adultos inmunocompetentes con criptosporidiosis, demostró que la nitazoxanida produjo mejoría clínicamente significativa. Al séptimo día, la diarrea se resolvió en 39 de 49 (80%) casos tratados con nitazoxanida en comparación con 20 de 49 (41%) de los que recibieron placebo. La nitazoxanida también redujo la duración de la eliminación de ooquistes (Ochoa y White, 2005).

## 2.10. PREVENCIÓN Y CONTROL

Debido a la ausencia de fármacos realmente eficaces en el tratamiento de la criptosporidiosis, las medidas higiénicas y de manejo constituyen la herramienta de prevención y control más eficaz, con el fin de destruir los ooquistes presentes en el medio y reducir la transmisión de la enfermedad a los animales durante las primeras semanas de vida (Quilez *et al.*, 2003).

Se debe evaluar las heces de todos los perros con diarreas de intestino delgado persistentes para evaluar la presencia de ooquistes de *C. parvum*, para prevenir la infección accidental, ya que, la criptosporidiosis es una enfermedad zoonótica con casos descritos de transmisión de perros a seres humanos (Morgan *et al.*, 2003; Nelson y Couto, 2006); particularmente si en el mismo ambiente reside una persona inmunodeficiente o niños de corta edad (dos años), donde los síntomas se presentan en forma más severa (Saredi, 2002; Nelson y Couto, 2006). La forma más eficaz de prevención es evitar la exposición (Nelson y Couto, 2006).

En el hombre se deben tomar precauciones, para prevenir el contagio evitando el contacto directo con las heces de una persona infectada con criptosporidiosis (López-Vélez *et al.*, 2008) y cuando se trata de poblaciones infantiles es recomendable aislar a los niños con diarrea de aquel asintomático (De la Parte-Pérez *et al.*, 2005). Lavarse las manos con agua corriente y jabón antes de comer, preparar alimentos, atender niños o pacientes inmunodeficientes y si se ha tocado a nuestra mascota. También se debe evitar la ingesta de agua directamente de ríos, lagos o manantiales, así como tomar en forma accidental aguas de áreas de recreación como piscinas (De la Parte-Pérez *et al.*, 2005; López-Vélez *et al.*, 2008), por ello se recomienda beber agua preparada para el consumo



o hervir el agua, por lo menos durante un minuto de ser bebida (López-Vélez *et al.*, 2008). La remoción de este microorganismo de las aguas en las plantas de tratamiento, principalmente se logra, con el uso de filtros de 0.1-1 micrómetro de diámetro (López-Vélez *et al.*, 2008; Luján y Garbossa, 2008).

Así como medidas de control mediante desinfección, para eliminar la infectividad de los ooquistes. Para ello se necesita 30 minutos de exposición con formalina al 10%, amoníaco al 50% o hipoclorito de sodio comercial al 70%; de 5-10 minutos a temperatura ambiente, con peróxido de hidrógeno y el «Oo-cide» (mezcla de amonio e hidróxido sódico), de 6 a 10 minutos con 1 parte por millón de ozono en agua o 120 minutos con 80 partes por millón de cloro en agua y con al menos 150 minutos de exposición a radiación ultravioleta (Ortega *et al.*, 1999; Barriga, 2002).

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. LUGAR DE ESTUDIO

El departamento de Puno se localiza en la parte sur oriental del Perú y está conformado por 13 Provincias y 104 Distritos; con un clima frío y semi-seco (Cuba e Ita, 2008), presentando dos estaciones muy marcadas, una lluviosa y templada, de diciembre a marzo y la otra seca e invernal de abril a noviembre (Cuba e Ita, 2008; INEI, 2010).

El estudio se realizó en los distritos de Ajoyani, provincia de Carabaya; así como Palca y Santa Lucía, provincia de Lampa en el departamento de Puno, localizados a una altitud de 4255, 4068 y 4045 msnm, respectivamente. El periodo de muestreo estuvo comprendido entre los meses de enero y marzo del 2008 con temperaturas que fluctuaron entre -2.6 y 14.4; -2.8 y 18.8 y entre -5 y 18.6°C y con precipitaciones de 187.3, 119 y 85.8 mm para Ajoyani, Palca y de Santa Lucía, respectivamente (SENAMHI, 2008) durante la época de lluvias. Además corresponde a un estudio descriptivo de corte transversal.

### 3.2. ANIMALES DEL ESTUDIO

Las muestras fecales fueron obtenidas de 123 caninos mestizos de diferentes edades las que estuvieron comprendidas entre 1 mes y 16 años, de ambos sexos y cuyos propietarios residían en los distritos antes mencionados.

### 3.3. TAMAÑO MUESTRAL

Para determinar el número mínimo de animales a muestrearse, se utilizó la fórmula para estimación de una proporción, de poblaciones infinitas (Daniel, 1996). Como no se contó con estudios similares en caninos de zonas rurales, se optó por la prevalencia en caninos de la ciudad de São Paulo, por ser la más actual (Lallo y Bondan, 2006).

$$n = \frac{Z^2 pq}{(e)^2} = 123.32$$

donde:  $Z = 1.96$  (95% de nivel de confianza)

$p = 0.088$  ( $p = 8.8\%$  Lallo y Bondan, 2006)

$q = 0.912$  (Complemento de la prevalencia referencial)

$e = 0.05$  (Error máximo admisible)

De esta manera, el cálculo del tamaño muestral mínimo fue de 123 muestras fecales. Como se consideraron tres distritos, el tamaño de muestra de cada distrito se estratificó proporcionalmente mediante la fórmula (Pérez, 2000):

$$n_h = \frac{N_h}{N} n$$

donde:  $n_h$  = Tamaño de muestra en el distrito

$N_h$  = Población del distrito

$N$  = Tamaño de la población en estudio

$n$  = Tamaño de la muestra calculada

**Cuadro 2:** Distribución de números de muestras fecales de caninos domésticos recolectadas en distritos de las provincias de Carabaya y Lampa-Puno (enero-marzo, 2008).

Distritos - Puno	Número de muestras
Ajoyani	21
Palca	21
Santa Lucía	81
<b>TOTAL</b>	<b>123</b>

#### 3.4. RECOLECCIÓN Y PROCESAMIENTO DE MUESTRAS

Para motivar la colaboración de la comunidad en la toma de muestras, se realizaron charlas informativas en los Centros de Salud de cada localidad, con la finalidad de difundir las probables enfermedades zoonóticas que pueden ser transmitidas por los caninos, otorgándose a los propietarios de los caninos domésticos envases de plástico (200 ml.), de boca ancha con tapa rosca, indicándoseles que devuelvan una cantidad de aproximada de 10 gramos de heces, recién evacuadas libres del contacto de tierra y orina (Beltrán *et al.*, 2003); entregándose a cambio una dosis de antiparasitario para sus mascotas.

Se recolectó una sola muestra coprológica por participante, las cuales fueron rotuladas indicándose procedencia, número de muestra, edad y sexo, siendo transportadas en cajas térmicas con geles refrigerantes al Laboratorio de Parasitología del INIA-Quimsachata (Puno) donde se realizaron los frotices fecales, y se dejaron secar al medio ambiente, para luego ser fijadas en metanol durante 5 minutos en vaso koplin y posteriormente fueron transportadas al Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la UNMSM donde se tiñó mediante la técnica de tinción para

organismos ácido-resistentes Ziehl-Neelsen Modificada (*Cryptosporidium* sp.), según técnicas descritas (Rojas, 2004). Los reactivos se prepararon según protocolos establecidos (Min. Salud, 1999; Romero *et al.*, 2000).

### 3.5. ANÁLISIS COPROLÓGICO DE LAS MUESTRAS

Tinción de Ziehl-Neelsen Modificada: Permite observar ooquistes de *Cryptosporidium* sp. (Rojas, 2004).

#### A. REACTIVOS:

##### a) Fucsina Básica Fenicada

Se disolvieron 3 g de fucsina básica en 100 ml de alcohol de 95°, luego se agregaron 55 ml de fenol líquido, se agitó y agregó agua destilada hasta completar 1 litro. Se Dejó reposar por 24 horas, para después filtrar con papel filtro nº 1, antes de ser usada.

##### b) Verde Malaquita

Se disolvieron 5 g de verde malaquita en 100 ml de agua destilada, se dejó reposar por 24 horas, luego se filtró antes de ser usada.

##### c) Ácido Sulfúrico al 2%

Con la pipeta se dejó escurrir 2 ml de ácido sulfúrico por las paredes del matraz, que contiene 98 ml de alcohol de 70° y luego homogenizar la mezcla.

#### B. PROCEDIMIENTO:

- Hacer una extensión o frotis fecal sobre un portaobjeto y dejar secar.
- Fijar en metanol absoluto por 5 minutos y dejar secar.
- Teñir el frotis con fucsina básica fenicada durante 20 minutos y lavar enseguida con agua destilada.

- Posteriormente se decolora con ácido sulfúrico al 2% durante 20 segundos para luego ser lavadas inmediatamente con agua destilada.
- Teñir con solución Verde Malaquita durante 5 minutos, luego lavar con agua destilada y dejar secar al medio ambiente.
- Colocar 1 gota de aceite de inmersión y cubrir con un cubreobjeto.
- Observar al microscopio de luz a un aumento de 400X y 1000X en inmersión.

#### C. LECTURA DE LÁMINAS:

- Antes de comenzar la lectura de las láminas, se colocó una gota de aceite de inmersión y cubrir con un cubreobjeto.
- La lectura se realizó con un microscopio de luz, previamente calibrado.
- Primero se observó con un aumento de 400X para la ubicación del parásito.
- Luego se usó el aumento de 1000X para identificar y confirmar las muestras positivas, empleando un ocular micrométrico para la medición de los ooquistes.

Se consideró como muestra positiva aquella que presentaban ooquistes de forma esférica u ovalada, de color rojo fucsia encendido con presencia de granulaciones oscuras en su interior, éstas últimas constituyen un cuerpo residual grande, que se ve como una mancha refringente; contrastando con un fondo verde y que estuvieran dentro del rango de 4 a 6  $\mu\text{m}$  de diámetro (*Cryptosporidium parvum*). Las levaduras adquieren coloraciones similares, diferenciándose de los ooquistes por sus características morfológicas, tintoriales, diversidad de tamaño y la tinción homogénea que presentan, observándose como una imagen plana (Henriksen y Pohlenz, 1981; Barriga, 2002; Luján y Garbossa, 2008).

### 3.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las variables de carácter cualitativo fueron agrupadas en categorías para su análisis. Estas son: sexo (macho, hembra), edad (en categorías), lugar de procedencia de la muestra. La frecuencia de parasitosis se expresó en forma porcentual de acuerdo a los resultados parasitológicos, con sus respectivos intervalos de confianza del 95%.

Los resultados se expresaron en forma porcentual y para evaluar las posibles asociaciones de *Cryptosporidium* sp. con edad, sexo y localidad, se aplicó la prueba de Chi cuadrado, con un nivel de significancia de 0.05. Los datos fueron analizados utilizando el paquete estadístico SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) versión 10.0 para Windows.

Para estimar la prevalencia se utilizó la siguiente fórmula (Pagano y Gauvereau, 2001):

$$P = \frac{N^{\circ} \text{ muestras positivas} \times 100}{N^{\circ} \text{ total de muestras}}$$

Los resultados fueron expresados con un intervalo de confianza del 95% utilizando la fórmula:

$$IC = P \pm z \sqrt{(pq)/n}$$

donde: P = Prevalencia

$$q = 1 - p$$

z = 95% de nivel de confianza (1.96).

n = Tamaño muestral

## IV. RESULTADOS

De un total de 123 muestras fecales analizadas, se encontraron 33 muestras de caninos que resultaron positivas a *Cryptosporidium* sp. mediante la técnica de Ziehl-Neelsen modificada, obteniendo una prevalencia general de  $26.8 \pm 7.8\%$  (33/123).

En el **Cuadro 3**, se muestra la prevalencia de *Cryptosporidium* sp. en caninos según el distrito: Ajoyani, Palca y Santa Lucía del departamento de Puno, donde se encontraron prevalencias de 19, 28.6 y 28.4%; respectivamente.

Así mismo, se muestra la prevalencia de *Cryptosporidium* sp. en caninos según el sexo. De un total de muestras colectadas, 106 pertenecieron a los machos y 17 pertenecieron a las hembras, hallándose prevalencias del 28.3 y el 17.6% en machos y hembras respectivamente.

De acuerdo a la edad, menores de seis meses, más de seis a doce meses, mayor un año hasta seis años y más de seis años, se hallaron positivas el 46.2, 31.3, 19.7 y 29.4%, respectivamente.

Al realizar el análisis mediante la prueba de Chi cuadrado, usando un nivel de significancia del 0.05, se halló ausencia de asociación significativa ( $p > 0.05$ ) entre las variables en estudio (edad, sexo y distrito de procedencia), con la parasitosis en caninos.



**Cuadro 3.** Prevalencia de *Cryptosporidium* sp. en caninos, según según distritos, sexo y edad de las provincias de Carabaya y Lampa-Puno mediante la técnica de Ziehl-Neelsen modificada (enero-marzo, 2008).

VARIABLES		Nº Muestras	Nº Positivas	%±IC* 95%
<i>Distritos</i>				
	Ajoyani	21	4	19.0
	Palca	21	6	28.6
	Santa Lucía	81	23	28.4
<i>Sexo</i>				
	Macho	106	30	28.3
	Hembra	17	3	17.6
<i>Edad</i> (meses)				
	0-6	13	6	46.2
	>6-12	32	9	31.3
	>12-72	61	12	19.7
	>72	17	5	29.4
<b>Total</b>		<b>123</b>	<b>33</b>	<b>26.8±7.8</b>

\*Intervalo de confianza

## V. DISCUSIÓN

Los caninos juegan un importante rol en la sociedad a nivel mundial, constituyendo una compañía importante en muchos hogares, apoyando al desarrollo emocional de niños y ancianos; así como en labores de pastoreo en especial en las comunidades rurales, donde mantienen un contacto directo con los niños. A pesar de los beneficios sociales y laborales, existen inconvenientes relacionados a la tenencia de estas mascotas como las zoonosis, un conocido riesgo en salud pública asociada con las infecciones parasitarias que son capaces de ser transmitidas al hombre por los animales, como la criptosporidiosis (Robertson *et al.*, 2000; Acha y Szyfres, 2003; Dabanch, 2003).

Algunas especies de *Cryptosporidium* presentan una especificidad baja respecto al hospedador, así por ejemplo, *Cryptosporidium parvum* puede transmitirse indistintamente entre humanos, rumiantes y también se le ha reportado en otros animales como: llama, guanaco, alpaca, perros, gatos y otros mamíferos (Fayer, 2004); siendo los ooquistes de *Cryptosporidium* altamente infecciosos, así la dosis infectiva en algunas personas es de tan sólo uno a 10 ooquistes (Steiner *et al.*, 2002). Así como *Cryptosporidium canis* que se ha reportado en dos hermanos y su perro en el Perú, durante el mismo período (Xiao *et al.*, 2007).

En tal sentido, en el presente estudio se determinó una prevalencia general para *Cryptosporidium* sp. del  $26.8 \pm 7.8\%$  (tabla 1) en caninos de tres distritos de las provincias de Carabaya y Lampa de Puno, mediante la técnica de Ziehl-Neelsen modificada.

Lamentablemente, en nuestro medio, no existen estudios similares en caninos provenientes de zonas rurales y sólo se cuenta con los hallazgos obtenidos en zonas urbanas, de diferentes distritos de Lima Metropolitana, donde Romero *et al.*, (2000) reportaron una frecuencia del  $25 \pm 6.3\%$ . A pesar de las diferencias epidemiológicas en ambos estudios, como: urbanización, razones ecológicas y saneamiento ambiental; los resultados fueron similares; esto fue debido probablemente a los antecedentes de los animales evaluados, siendo el 45% de los mismos procedentes de consultorios veterinarios, donde no se verificaron que estuvieran inmunosuprimidos, por lo que posiblemente ese resultado resultó sobrestimando.

Los resultados hallados en este estudio difieren considerablemente con otros, realizados en países vecinos; así Gorman *et al.* (2006); al evaluar caninos procedentes de zonas urbanas, en Chile, hallaron una prevalencia del 1.9% para *Cryptosporidium* sp. en muestras obtenidas de diversas clínicas veterinarias y de los Servicios de Higiene Ambiental; mientras que Lallo y Bondan (2006), al evaluar caninos provenientes de un hospital veterinario universitario público y de perreras particulares en la ciudad de São Paulo hallaron una prevalencia del 8.8%; mientras que en el área metropolitana de Barcelona, caninos alojados en refugios después de su captura, presentaron una prevalencia de 6.3% (Gracenea *et al.*, 2009). En todos los casos se utilizó la técnica de Ziehl-Neelsen modificada.

Ya que existen diversos factores de riesgo que ocasionan que las poblaciones rurales sean más susceptibles a parasitosis intestinales, como por ejemplo: razones ecológicas, bajo nivel socioeconómico, mala disponibilidad de agua, condiciones sanitarias deficientes, mala higiene personal, comer alimentos contaminados, vivir en hacinamiento y la estrecha convivencia con animales que sirven como fuente de infección, entre otros (Botero y Restrepo, 2006). Así en una comunidad rural de

Venezuela se reporta prevalencias de 83.9%; siendo los más frecuentes, los protozoarios (96.2%) incluido *Cryptosporidium parvum* -7.1%- (Devera *et al.*, 2006).

En relación a la variable distrito de procedencia, no se observó diferencia estadística significativa entre la presentación de *Cryptosporidium* sp. en caninos de los tres distritos. Esto pudo deberse a las condiciones epidemiológicas similares presente en las zonas de estudio, ya que las muestras se recolectaron entre los meses de enero y marzo, durante la estación de lluvias, donde la temperatura y precipitación son ideales para la supervivencia de este parásito en el medio ambiente. Además en Puno el 82% de la población utilizan aguas de pozos, ríos, acequias, manantiales o similar para obtener el agua para su consumo (INEI, 2008), aumentando el riesgo de transmisión de esta parasitosis tanto en humanos como en sus mascotas.

Por otro lado, los meses de muestreo del estudio coincidió con la época de parición de alpacas; donde las crías se ven afectadas por este protozoo, que según reportes de Molina *et al.* (2009) estarían parasitados en un 34% en localidades de Puno; produciéndose así una contaminación progresiva en la explotación a lo largo de la paridera, pues por el gran número de nacimientos ocasiona con frecuencia el hacinamiento de los animales y las condiciones higiénicas muchas veces deficientes, aumentan la presión de infección en éstos animales, favoreciendo la acumulación de materia fecal contaminada (Ortega *et al.*, 1999; Quilez *et al.*, 2003); así como el tipo de crianza extensiva (INIA, 2004), donde al utilizar los perros pastores que están en contacto directo con los camélidos, pueden infectarse con mayor probabilidad y ser una fuente de infección hacia sus dueños. Ya que se realizó una encuesta en el presente trabajo, donde el 60% de los propietarios encuestados señalaron que sus perros vivían en el campo junto con el ganado.

No se logró establecer diferencias estadísticas entre la presentación de *Cryptosporidium* sp. por efecto del sexo, evaluada mediante Chi cuadrado; debido a que ambos sexos tienen las mismas oportunidades de infección (Ortega *et al.*, 1999). Similares hallazgos fueron reportados por Romero *et al.* (2000), Lallo y Bondan (2006) y Rodríguez *et al.* (2009); quienes no reportaron relación entre la variable sexo y el hallazgo de *Cryptosporidium* sp. en las heces.

Así mismo la prevalencia de *Cryptosporidium* sp. en caninos según la variable edad no mostró diferencia estadística ( $p>0.05$ ); a pesar que en los cuatro grupos etarios la prevalencia en animales positivos varió entre 19 y 46%. Resultados similares se reportaron en otros estudios realizados en caninos por Romero *et al.* (2000) y Rodríguez *et al.* (2009), quienes también no encontraron relación entre la edad de los caninos y el hallazgo de *Cryptosporidium* sp. en las heces. Sin embargo, otros estudios indican que la criptosporidiosis afecta preferentemente a animales jóvenes (Ortega *et al.*, 1999; Acha y Szyfres, 2003). Esto pudo deberse, a las similitudes en las condiciones sanitarias y estado nutricional entre los grupos etarios.

## VI. CONCLUSIONES

- La prevalencia general de *Cryptosporidium* sp. en caninos en los distritos de Ajoyani de la provincia de Carabaya y en los distritos de Palca y Santa Lucía de la provincia de Lampa, departamento de Puno, fue de  $26.8 \pm 7.8\%$ .
- El análisis estadístico no mostró asociación significativa ( $p > 0.05$ ) entre la presencia de *Cryptosporidium* sp. con las variables de distrito de procedencia, sexo y edad de los caninos.

## VII. RECOMENDACIONES

- Mejorar las condiciones de saneamiento ambiental e inculcar en la población la importancia de las medidas básicas de higiene, mediante charlas educativas dirigidas a la comunidad.

## VIII. BIBLIOGRAFÍA CITADA

1. **Acha PN, Szyfres B. 2003.** Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 3ª ed. Washington: OPS. 398 p.
2. **Ataucocha G, Gallego S, Muñiz F. 2000.** Fluctuaciones de *Cryptosporidium* sp. En agua del río Vilcanota correspondiente al area de influencia de la población de Sicuani-Cusco. Res IV Congreso Peruano de Parasitología, Lima-Perú.
3. **Atías A. 1994.** Parasitología clínica. 3ª ed. Chile: Publicación Técnicas Mediterráneo. 618 p.
4. **Barr SC. 2000.** Criptosporidiosis y ciclosporiasis. En: Greene CE, ed. Enfermedades infecciosas en perros y gatos. México: Graw Hill Interamericana. p 570-576.
5. **Barriga O. 2002.** Las Enfermedades Parasitarias de los Animales Domésticos en la América Latina. Santiago: Germinal. 247 p.
6. **Beltrán M, Tello R, Náquira C. 2003.** Manual de procedimientos de laboratorio para el diagnóstico de los parásitos intestinales del hombre. Lima: Ministerio de Salud, INS. 90 p.
7. **Botero D, Restrepo M. 2006.** Parasitosis humanas. 4ª ed. Colombia: CBI. 506 p.



8. **Carreño M, Velasco CA, Rueda E. 2005.** Prevalencia de *Cryptosporidium spp* en niños menores de 13 años con afecciones oncológicas. Colomb Med 36(Suppl.1): 6-9.
9. **Castillo R, Miranda E, Gilman R, Sterling Ch, Echevarría M, Lembcke J. 2000.** Infección por *Cryptosporidium parvum* y evaluación del estado nutricional en niños menores de dos años de edad. Res IV Congreso Peruano de Parasitología, Lima-Perú.
10. **Causapé AC, Quílez J, Sánchez-Acedo C, del Cacho E, López-Bernad F. 2002.** Prevalence and analysis of potential risk factors for *Cryptosporidium parvum* infection in lambs in Zaragoza (northeastern Spain). Vet Parasitol 104(4): 287-298.
11. **Chen XM, Keithly JS, Paya CV, La Russo NF. 2002.** Criptosporidiosis. N Engl J Med 346: 1723-31.
12. **Cuba F, Ita N. 2008.** Guía Climática Turística. Lima: SENAMHI. 216 p.
13. **Dabanch PJ. 2003.** Zoonosis. Rev Chil infectol 20(Suppl.1): 47-51.
14. **Daniel D. 1996.** Bioestadística: Base para el análisis de las ciencias de la salud. 5ª ed. México: Limusa. 878 p.
15. **Devera R, Angulo V, Amaro E, Finali M, Franceschi G, Blanco Y, Tedesco RM, Requena I, Velásquez V. 2006.** Parásitos intestinales en habitantes de una comunidad rural del Estado Bolívar, Venezuela. Rev Biomed 17: 259-268.
16. **De Arango M, Rodríguez DA, Prada NE. 2006.** Frecuencia de *Cryptosporidium spp* en materia fecal de niños entre un mes y trece años en un hospital local colombiano. Colomb Med 37(2): 121-125.
17. **De la Parte-Pérez MA, Bruzual E, Brito A, Hurtado M. 2005.** *Cryptosporidium spp.* y Criptosporidiosis. Rev Soc Ven Microbiol 25(1): 06-14.
18. **Del Coco VF, Córdoba MA, Basualdo JA. 2009.** Criptosporidiosis: una zoonosis emergente. Rev Argent Microbiol 41: 185-196.
19. **Ditrich O, Palkovic L, Sterba J, Prokopic J, Loudova J, Giboda M, 1991.** The first finding of *Cryptosporidium baileyi* in man. Parasitol Res 77(1): 44-47.

20. **Donato AO. 2007.** Malnutrición y sistema immune. Argentina [Internet], [11 mayo 2010]. Disponible en: <http://www.salud.bioetica.org/malnutricion.htm>
21. **Fayer R. 2004.** *Cryptosporidium*: a water-borne zoonotic parasite. *Veterinary Parasitology* 126: 37-56.
22. **Fernández VR. 1998.** Detección de ooquistes de *Cryptosporidium parvum* en felinos domésticos de Lima Metropolitana. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Univ. Nac. Mayor de San Marcos. 22 p.
23. **Figueiredo HCP, Pereira DJ, Nogueira RB, Costa PR. 2004.** Excreção de oocistos de *Cryptosporidium parvum* em cães saudáveis das cidades de Lavras e Viçosa, Estado de Minas Gerais, Brasil. *Cienc Rural* 34(5): 1625-1627.
24. **Flynn PM. 2004.** Protozoos intestinales formadores de esporas. En: Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB. eds. *Nelson Tratado de Pediatría*. 17ª ed. Madrid: Elsevier. p 1128.
25. **Gállego J. 2007.** Manual de parasitología. Morfología y Biología de los parásitos de interés sanitario. 2ª ed. Barcelona: UB. 516 p.
26. **García C, Rodríguez E, Do N, López de Castilla D, Terashima A, Gotuzzo E. 2006.** Parasitosis intestinal en el paciente con infección VIH-SIDA. *Rev Gastroenterol* 26: 21-24.
27. **Giangaspero A, Iorio R, Paoletti B, Donato Traversa D, Capelli G. 2006.** Molecular evidence for *Cryptosporidium* infection in dogs in Central Italy. *Parasitol Res* 99: 297-299.
28. **Gorman T, Soto A, Alcaino H. 2006.** Parasitismo gastrointestinal en perros de comunas de Santiago de diferente nivel socioeconómico *Parasitol Latinoam* 61: 126-132.
29. **Gracenea M, Gómez MS, Torres J. 2009.** Prevalence of intestinal parasites in shelter dogs and cats in the metropolitan area of Barcelona (Spain). *Acta Parasitológica* 54(1): 73-77.
30. **Greene CE. 2000.** Personas y mascotas inmunocomprometidas. En: Greene CE, ed. *Enfermedades infecciosas en perros y gatos*. 2ª ed. México: Graw Hill Interamericana. p 784-791.

31. **Guerrant RL. 1997.** Criptosporidiosis: An Emerging, Highly infectious Threat. *Emerg Infec Dis* 3(1): 51-7.
32. **Hernández Ávalos I, Ruiz Cervantes JG, Miranda Cortés AE, González García RJ, Castillejos Méndez I. 2008.** Valoración del efecto de un macrólido en cuatro casos clínicos afectados por *Cryptosporidium* sp. *Revista AMMVEPE* 19(5): 119-123.
33. **Henriksen S, Pohlenz J. 1981.** Staining of *Cryptosporidium* by modified Ziehl-Neelsen technique. *Act Vet Scand* 22: 594-96.
34. **Huiza A, Espinoza Y, Rojas R, Sevilla C, Alva P, Verástegui R, Quispe E, Romualdo G, Ángeles Z, Candiotti J, Huapaya P. 2004.** Detección de coccidios en niños asintomáticos mediante esporulación de muestras fecales. *An Fac Med* 65(4): 239-242.
35. **[INEI] Instituto Nacional de Estadística e Informática. 2010.** Banco de Información Distrital. Lima, Perú. [Internet], [28 julio 2010]. Disponible en: <http://www.inei.gob.pe/>
36. **[INEI] Instituto Nacional de Estadística e Informática. 2008.** Censos Nacionales 2007: XI de Población y VI de Vivienda. Perfil Sociodemográfico del Perú. 2ª ed. Lima: INEI. 474 p.
37. **[INIA] Instituto Nacional de Investigación y Extensión Agraria. 2004.** PERÚ: Primer Informe Nacional sobre la Situación de los Recursos Zoogenéticos. Lima: INIA. 66 p.
38. **Jubb PC, Kennedy NP. 1990.** Patología de los animales domésticos. 3ª ed. Montevideo: Agropecuaria Hemisferio Sur. 571 p.
39. **Lallo MA, Bondan EF. 2006.** Prevalência de *Cryptosporidium* sp. em cães de instituições da cidade de São Paulo. *Rev Saúde Pública* 40(1): 120-5.
40. **López-Vélez R, Martín Echavarría E, Pérez Molina JA. 2008.** Guía de enfermedades infecciosas importadas. Madrid: Ministerio de sanidad y consumo. 210 p.
41. **Luján N, Garbossa G. 2008.** *Cryptosporidium*: cien años después. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 42(2): 195-201.

42. **Mensa J, Gatell JM, Azanza JR, Domínguez-Gil A, García JE, Jiménez MT, Prats G. 2008.** Guía de terapéutica antimicrobiana. 18ª ed. Barcelona: MASSON: 617 p.
43. **Ministerio de Salud. 1999.** Procedimientos de Laboratorio. INS. Perú: Amarilys. 474 p.
44. **Molina D, López T, González A, Gómez L, Pezo D. 2009.** *Cryptosporidium parvum* como factor de riesgo en la diarrea neonatal en alpacas de Puno. Rev Inv Vet Perú 20(2): 263-269.
45. **Morgan RV, Bright RM, Swartout MS. 2003.** Clínica de pequeños animales. 4ª ed. Madrid: Elsevier. 1189 p.
46. **Morgan-Ryan UM, Fall A, Ward LA, Hijjawi N, Sulaiman I, Fayer R, Thompson RCA, Olson M, Lal A, Xiao L. 2002.** *Cryptosporidium hominis* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) from Homo sapiens. J Eukaryot Microbiol 49(6): 433-40.
47. **Nelson RW, Couto CG. 2006.** Manual de medicina interna de pequeños animales. Madrid: Elsevier. 912 p.
48. **Nime FA, Burek JD, Holscher MA, Yardley JH. 1976.** Acute enterocolitis in a human being infected with the protozoan *Cryptosporidium*. Gastroenterology 70(4): 592-8.
49. **Ochoa TJ, White AC. 2005.** Nitazoxanide for Treatment of Intestinal Parasites in Children. Pediatr Infect Dis J 24(7): 641-2.
50. **Ortega ML, Gómez M, Rojo FA. 1999.** Criptosporidiosis. En: Cordero del Campillo M, Rojo FA, Martínez AR, Sánchez MC, Hernández S, Navarrete I, Díez P, Quiroz H, Carvalho M. eds. Parasitología Veterinaria. Madrid: Mc. Graw Hill Interamericana. 968 p.
51. **Pagano M, Gauvreau K. 2001.** Fundamentos de la bioestadística. 2ª ed. México: Thomson Learning. 525 p.
52. **Pérez C. 2000.** Técnicas de muestreo estadístico. 2000. México: Alfaomega. 603 p.

53. **Pérez-Cordón G, Rosales-Lombardo MJ, Sánchez-Moreno M. 2005.** Procesamiento de muestras fecales en el estudio de *Cryptosporidium* sp. mediante PCR. Rev. Peru. Biol. 12(1): 158-160.
54. **Quilez J, Sánchez-Acedo C, Del Cacho E. 2003.** Criptosporidiosis de los pequeños rumiantes. Sociedad española de ovinotecnia y caprinotecnia 4(2): 22-30.
55. **Reyes H, Navarro P, Sánchez M. 2004.** Infecciones por parásitos en trabajadores de la salud: transmisión y control. INHRR 35(1): 32-45.
56. **Robbins. 2000.** Patología estructural y funcional. 6ª ed. México: Mc. Graw Hill Interamericana. 1475 p.
57. **Robertson ID, Irwin PJ, Lymbery AJ, Thompson RCA. 2000.** The role of companion animals in the emergence of parasitic zoonoses. International Journal for Parasitology 30: 1369-1377.
58. **Rodríguez JC, Royo G. 2001.** *Cryptosporidium* y Criptosporidiosis. Servicio de Microbiología. Hospital General Universitario de Elche (Alicante). España. [Internet], [11 marzo 2009]. Disponible en: [http://www.seimc.org/control/revi\\_Para/pdf/crypto.pdf](http://www.seimc.org/control/revi_Para/pdf/crypto.pdf)
59. **Rodríguez E, Manrique-Abril F, Pulido M, Ospina-Díaz J. 2009.** Frecuencia de *Cryptosporidium spp* en caninos de la ciudad de Tunja-Colombia. Rev MVZ Córdoba 14(2): 1697-1704.
60. **Rojas M. 2004.** Nosoparasitismo de los rumiantes domésticos peruanos. 2ª ed. Lima: UNMSM. 146 p.
61. **Romero M, Chávez A, Casas E. 2000.** Determinación de la presencia de *Cryptosporidium parvum* y *Cyclospora* sp. en caninos domésticos (*Canis familiaris*) en los distritos de Lima Metropolitana. Rev Inv Vet Perú 11: 26-31.
62. **Rossignol JF. 2010.** *Cryptosporidium* and *Giardia*: Treatment options and prospects for new drugs. Exp Parasitol 124(1): 45-53.
63. **Sánchez Acedo C, Quilez J, Del Cacho E, Gallego M, López F, Estrada A. 2009.** Diarreas neonatales de los pequeños rumiantes: Criptosporidiosis. Sociedad española de ovinotecnia y caprinotecnia 10(1): 23-29.

64. **Salomón MC, Tonilli RL, Borremans CG, Bertello D, De Jong LI, Jofré CA, Enriquez V, Carrizo LC, Costamagna SR. 2007.** Prevalencia de parásitos intestinales en niños de la ciudad de Mendoza, Argentina. *Parasitol Latinoam* 62: 49-53.
65. **Saredi NG. 2002.** Manual práctico de parasitología médica. Buenos Aires: Laboratorios Andrómaco. 111 p.
66. **[SENAMHI] Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología. 2008.** Información del tiempo, clima y agua. Lima, Perú. [Internet], [08 abril 2010]. Disponible en: <http://www.senamhi.gob.pe/>
67. **Shukla R, Giraldo P, Kraliz A, Finnigan M, Sánchez A. 2006.** *Cryptosporidium* spp. zoonóticos y otros parásitos entéricos en una muestra nacional de perros y gatos en la región de Ontario Niagara. *The Canadian Veterinary Journal*. 47(12): 1179-1184.
68. **Smith HV, Nichols RAB, Grimason AM. 2005.** *Cryptosporidium* excystation and invasion: getting to the guts of the matter. *Trends Parasitol* 21: 133-42.
69. **Solorzano-Santos F, Penagos-Paniagua M, Meneses-Esquivel R, Miarnda-Novales MG, Leanos-Miranda B, Angulo-González D, Fajardo-Gutiérrez A. 2000.** Infección por *Cryptosporidium parvum* en niños desnutridos y no desnutridos sin diarrea en una población rural mexicana. *Rev Invest Clin* 52(6): 625-31.
70. **Steiner TS, Pape JW, Guerrant RL. 2002.** Infecciones intestinales por coccidios. En: Guerrant RL, Walker, DH, Weller, PF. eds. *Enfermedades infecciosas tropicales*. Madrid: Elsevier. p 353-359.
71. **Torres-Olave ME, Urita O, Sanin LH, Alarcón MT. 2008.** Asociación geográfica entre la mortalidad por criptosporidiosis y deficiencias en la nutrición en el estado de chihuahua (México). México. [Internet], [01 marzo 2010]. Disponible en: <http://www.respyn.uanl.mx/ix/2/articulos/criptosporidiosis.htm>
72. **Trotz-Williams LA, Jarvie BD, Martin SW, Leslie KE, Peregrine AS. 2005.** Prevalence of *Cryptosporidium parvum* infection in southwestern Ontario and its association with diarrhea in neonatal dairy calves. *Can Vet J* 46(4): 349-51.

73. **Urquhart GM, Armour J, Duncan JL, Dunn AM, Jenmngs FW. 2001.** Parasitología Veterinaria. 2ª ed. Zaragoza: Acriba. 355 p.
74. **Vergara C, Quilez J. 2004.** Criptosporidiosis: Una zoonosis parasitaria. MVZ-Córdoba 9(1): 363-372.
75. **Villacorta C. 2007.** Evaluación de *Cryptosporidium parvum* como factor de riesgo para la presentación de diarrea neonatal en alpacas en el departamento de Cuzco. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Univ. Nac. Mayor de San Marcos. 30 p.
76. **Weitz JC, Astorga B. 1993.** *Cryptosporidium parvum* en pacientes con diarrea crónica y SIDA: diagnóstico mediante inmunofluorescencia indirecta con anticuerpos monoclonales. Rev Med Chil 121(8): 923-6.
77. **White AC, Chappell CL, Hayat CS, Kimball KT, Flanigan TP, Goodgame RW. 1994.** Paromomycin for criptosporidiosis in AIDS: a prospective, double-blind trial. J Infect Dis 170(2): 419-24.
78. **Xiao L, Bern C, Limor J, Sulaiman I, Roberts J, Checkley W, Cabrera L, Gilman RH, Lai AA. 2001.** Identification of 5 types of *Cryptosporidium* parasites in children in Lima, Perú. J Infect Dis 183(3): 492-7.
79. **Xiao L, Cama VA, Cabrera L, Ortega Y, Pearson J, Gilman RH. 2007.** Possible Transmission of *Cryptosporidium canis* among Children and a Dog in a Household. J Clin Microbiol 45(6): 2014-2016.
80. **Xiao L, Fayer R. 2008.** Molecular characterization of species and genotypes of *Cryptosporidium* and *Giardia* and assessment of zoonotic transmission. Int J Parasitol 38(11): 1239-1255.